

一、试剂

- 1. 缓冲液
Chromed GB 20×缓冲液（Sinochrome，货号：CM-GB-100 / CM-GB-250/）
Chromed TB 10×缓冲液（Sinochrome，货号：CM-TB-500）
- 2. 胰酶
Chromed E-I 胰酶，10 g/瓶（Sinochrome，货号：CM-E-10）
Chromed E-II 胰酶，0.5%（Sinochrome，货号：CM-E-05）
- 3. Giemsa染色液
Chromed G 吉姆萨染色液（Sinochrome，货号：CM-G-100 / CM-G-250）
- 4. 0.9 % NaCl溶液/生理盐水
- 5. 蒸馏水

二、试剂配制

试剂	总体积	组成	用量
0.005%胰酶工作液	400mL	Chromed TB 10×缓冲液	40mL
		0.5%胰酶溶液	4mL
		蒸馏水	356mL
Giemsa染色工作液	400mL	Chromed GB 20×缓冲液	20mL
		Chromed G	20mL
		蒸馏水	360mL

三、染色准备

- 1. 参考下表，向每个液缸中加入相应的溶液；
- 2. 将缸1放入到37度水浴锅中，调节胰酶溶液的温度。

表：液缸试剂

步骤	液缸	试剂	体积	说明
1	液缸1	0.005%胰酶工作液	400mL	消化
2	液缸2	0.9% NaCl	400mL	终止1
3	液缸3	0.9% NaCl	400mL	终止2
4	液缸4	Giemsa染色工作液	400mL	染色
5	液缸5	蒸馏水	500mL	清洗

四、G显带方法

1. 老化处理：显带前将滴有染色体的载玻片 80℃老化 3 小时，或 90℃老化处理 1 小时。
 2. 消化处理：载玻片放入缸 1 胰酶溶液消化处理，参考时间：60~100 秒。
 3. 终止1：载玻片放入生理盐水1，15秒。
 4. 终止2：载玻片放入生理盐水2，60秒。
 5. 染色：载玻片放入染色工作液，参考时间：100~300秒。
 6. 清洗：载玻片放入蒸馏水中，60秒。
 7. 显带结束，离心甩开或烘干载玻片表面的水。
- *：批量显带前须用1~2张载玻片进行试染色，以确保所有试剂工作正常。
- *：每步的处理时间与收获和滴片方法、老化方法、载玻片质量、培养基质量等许多因素相关，使用时请根据试片结果进行调整。
- *：显带处理的每步时间与试剂的质量相关。
- *：胰酶的消化时间与细胞种类、载玻片老化处理和细胞密度相关，但主要与载玻片老化处理程度（时间和温度）相关。老化处理有助于消除染色体发毛的情况，提高带纹的对比度。

参考文献

- 1.The AGT Cytogenetics Laboratory Manual, 3rd Ed., Edited by M. Barch, T. Knutsen, J. Sppurbeck, 1997, pas:77-171.